

1. Tytuł projektu:

Badanie wzajemnych modyfikacji metabolizmu energetycznego, funkcji i przeżywalności cholinergicznym komórek neuronalnych i mikroglejowych w warunkach cytotoksycznych

Akronim: POMOST 1

2. Autor/Autorzy: Joanna Klimaszewska-Łata

3. Budżet Projektu: 11 997,00 zł

4. Termin realizacji: Maj 2010 – Luty 2011

5. Nazwa programu, z którego projekt otrzymał dofinansowanie:

- Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka - POMOST

6. Główne cele:

Pomoc dla kobiety w ciąży nie mogącej brać udziału w realizacji projektu ze względu na ciążę w zakresie "zbadań wzajemnych modyfikacji metabolizmu energetycznego, funkcji i przeżywalności cholinergicznym komórek neuronalnych i mikroglejowych w warunkach cytotoksycznych" .

7. Działania:

Celem pracy jest zbadanie w jakim stopniu czynniki neurotoksyczne wpływają na metabolizm energetyczny zarówno mikrogleju jak i neuronów cholinergicznym oraz czy komórki te wzajemnie mogą modyfikować swoje funkcje i żywotność w warunkach patologicznym.

W pierwszym etapie oznaczane będą parametry enzymatyczne i metaboliczne wykazujące stopień integralności strukturalnej, funkcjonalnej i metabolicznej komórek N9. Oceniane będą parametry związane z metabolizmem acetylo-CoA, jak również z metabolizmem energetycznym i obroną antyoksydacyjną oraz obraz morfologiczny i immunohistochemiczny komórek mikroglejowych. W kolejnym etapie komórki mikroglejowe poddawane będą działaniu czynników cytotoksycznych (LPS, ZN, generatory NO) i cytoprotekcyjnym (kwas retinowy). Oceniane będą następnie wskaźniki metabolizmu acetylo-CoA (m.in. poziom CoA-SH/acetylo-CoA w mitochondrialnym i cytoplazmatycznym przedziale komórek, poziom ATP/ADP), ogólna liczba komórek i zawartość komórek uszkodzonych (oceniane za pomocą eliminacji błękitu trypanu) aktywności i poziomy enzymów mitochondrialnym i cytoplazmatycznym (m.in. KDH, PDH, akonitazy, IDH, liazy ATP-cytrynianowej) a także wewnątrzkomórkowy poziom NAA i NNAG (chromatografia cieczowa). W ostatnim etapie opracowywana będzie metoda prowadzenia hodowli łączonych mikroglejowo-neuronalnym

oraz metoda rozdzielania dwóch typów komórek (N9 i SN56) na separatorach magnetycznych wg technologii MACS (przy użyciu przeciwciał połączonych z magnetycznymi kulkami). Komórki w hodowlach łączonych będą również poddawane działaniu czynników cytotoksycznych i cytoprotekcyjnych, a następnie oceniane będzie oddziaływanie patologicznie zmienionego mikrogleju na komórki cholinergiczne. W ten sposób uzyskane zostaną nowe dane dotyczące wywołane cytotoksynami zmian w metabolizmie acetylo-CoA w mikrogleju i ich korelacji ze zmianami wydzielania cytokin zapalnych. Doświadczenia na wspólnych hodowlach neuronalno-mikroglejowych dostarczą danych na temat cytoprotekcyjnej i cytotoksycznej roli mikrogleju w uszkodzeniach komórek cholinergicznych w zależności od zmian ich metabolizmu energetycznego.

8. Przewidywane rezultaty:

Neurotoksyny działają zarówno bezpośrednio na neurony, jak i pośrednio poprzez stymulację mikrogleju do syntezy i wydzielania własnych neurotoksyn. Na skutek upośledzonego metabolizmu energetycznego mikrogleju, dochodzi do wzrostu uwalniania cytokin prozapalnych. Badania nad komórkami pochodzenia neuronalnego pośrednio wskazują, że kluczową rolę w tej sytuacji mógłby odgrywać hamujący wpływ neurotoksyn na syntezę i utylizację acetylo-CoA w komórkach glejowych.